

Departement für Nutztiere  
Abteilung für Schweinemedizin  
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. Dr. h. c. U. Braun

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von PD Dr. FVH X. Sidler

**Nachweis von PCV2-spezifischen Antikörpern in der  
Hodengewebsflüssigkeit kastrierter Ferkel zur Überprüfung der  
Mutterschutzimpfung**

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung der Doktorwürde der  
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

**Fabienne Künzli**

Tierärztin

von Amlikon-Bisegg, TG

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. Mark Suter, Referent

Prof. Dr. Roger Stephan, Korreferent

Zürich 2013

## Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung.....	3
1.1	Deutsch.....	3
1.2	Englisch .....	4
2	Einleitung.....	5
3	Tiere, Material und Methoden.....	8
3.1	Versuchsaufbau und Impfprotokoll .....	8
3.2	Blutentnahme zur Serumgewinnung.....	8
3.3	Kolostrumgewinnung .....	8
3.4	Gewinnung von Hodengewebsflüssigkeit .....	8
3.5	Serologische Untersuchungen.....	9
3.6	PCR .....	10
3.7	Statistische Auswertungen.....	10
4	Ergebnisse .....	11
4.1	Muttersauen.....	11
4.1.1	PCR der Seren der Muttersauen.....	11
4.1.2	PCV2-spezifische AK-Titer im Serum und Kolostrum .....	11
4.2	Ferkel.....	13
4.3	ROC-Analyse der AK-Titer der Hodengewebsflüssigkeit.....	19
5	Diskussion .....	21
6	Referenzen.....	24
7	Dank.....	27
8	Lebenslauf.....	28
9	Anhang.....	29

# 1 Zusammenfassung

## 1.1 Deutsch

Die Erkrankungen mit dem Porzinen Circovirus Typ 2 (PCV2) gehören weltweit zu den verlustreichsten Erkrankungen in der Schweineproduktion. In der Schweiz ist seit 2008 die Mutterschutzimpfung Circovac® gegen Infektionen mit PCV2 zugelassen. Ziel dieser Arbeit war es, eine praxisnahe Methode zum Nachweis einer erfolgten Mutterschutzimpfung gegen PCV2 bei 7 Tage alten Ferkeln zu finden. PCV2-spezifische Antikörper in der Hodengewebsflüssigkeit kastrierter Ferkel wurden mit den Serumwerten der Ferkel verglichen. 12 zufällig ausgewählte Muttersauen wurden in der 8. und 11. Trächtigkeitswoche mit Circovac® grundimmunisiert, während die 10 Sauen der Kontrollgruppe nur Adjuvans erhielten. Allen Muttersauen wurde bei der Geburt Kolostrum entnommen. Am 7. Lebenstag wurden den männlichen Ferkeln Blut entnommen, und sie wurden kastriert und die gewonnenen Hoden eingefroren. PCV2-spezifische Antikörper (AK) wurden mittels ELISA im Serum, im Kolostrum und in der Hodengewebsflüssigkeit bestimmt.

Geimpfte Sauen hatten im Vergleich zu den ungeimpften Sauen aus der Kontrollgruppe signifikant höhere PCV2-spezifische AK-Mengen sowohl im Serum als auch im Kolostrum. Überdies wiesen auch Ferkel geimpfter Sauen im Serum und in der Hodengewebsflüssigkeit signifikant höhere PCV2-spezifische Antikörpertiter auf.

Die Korrelation zwischen den AK-Titern der Ferkel im Serum und in der Hodengewebsflüssigkeit betrug  $r_s = 0.9269$ . Die bei der Kastration anfallenden Hoden erlauben daher den Nachweis einer erfolgreichen Mutterschutzimpfung ohne belastende Blutentnahme bei den Ferkeln oder Muttersauen. Bei einer Stichprobe von lediglich fünf Ferkeln aus verschiedenen Würfen konnten die geprüften Muttersauen mit einer Sicherheit von 97.67 % als geimpft und mit 73.36 % als ungeimpft eingestuft werden.

## 1.2 Englisch

Infections with the porcine circovirus type 2 (PCV2) lead to some of the biggest economic losses in the swine production worldwide. Since 2008 a vaccination against PCV2 for the dams (Circovac®) has been registered for Switzerland. The aim of this field study was to find a practical method to proof that the sows have been vaccinated against PCV2 by examining the seven days old piglets only. Instead of using the blood serum to determine the antibody level we chose a new approach by examining the testicles of castrated piglets. In order to achieve this, the frozen testicles of castrated piglets were taken. Their fluid was then analysed concerning the levels of antibodies against PCV2 and was compared with the corresponding serum. The 12 arbitrarily chosen sows of the trial group were immunized with Circovac® during the 8<sup>th</sup> and 11<sup>th</sup> week of the gestation period. The 10 sows of the control group only received the adjuvant. Colostrum was then taken from all sows at the day they were giving birth. On day 7 the male piglets were castrated and the testicles were frozen. Additionally, a blood sample of each piglet was taken. The levels of the PCV2 specific antibodies in the serum, the colostrum and the testicular fluid were analysed using an ELISA tool kit.

The sows of the trial group showed significantly higher antibody levels against PCV2 in their serum and colostrum as those of the control group. Additionally, significantly higher levels of antibodies were also measured in the serum and the testicular fluid of their piglets.

Because of the high correlation ( $r_s = 0.9269$ ) between the antibody titres in the serum and in the testicular fluid of the individual piglets we could show that the measured antibody titres in the testicle fluid are representative for the corresponding levels in the serum. It is therefore possible to use the testicles which incur as part of the castration to determine whether the sows had been vaccinated without any intrusive taking of blood samples from the sows or piglets. By testing a sample of only five piglets from different litters sows could be classified as vaccinated with a certainty of 97.67 % and classified as unvaccinated with a certainty of 73.36 %.

## 2 Einleitung

Eine Infektion mit dem Porzinen Circovirus Typ 2 (PCV2) ist Voraussetzung für das Entstehen des „Postweaning Multisystemic Wasting Syndroms“ (PMWS) (Opriessnig, Meng et al. 2007; Madec, Rose et al. 2008). 1991 wurde dieser Krankheitskomplex erstmals in Kanada im Zusammenhang mit vermehrtem Kümern, Tachypnoe und Dyspnoe, zunehmendem Gewichtsverlust und Zeichen einer Anämie bei frisch abgesetzten Ferkeln beobachtet und 1996 als schweinespezifisches Krankheitsbild beschrieben (Harding und Clark 1997). Betroffen waren hauptsächlich abgesetzte Ferkel im Alter von 5-12 Wochen (Allan und Ellis 2000). Die dabei auftretenden Symptome beinhalteten insbesondere Kümern, chronischen therapieresistenten Durchfall, schlechte Futterverwertung und eine erhöhte Mortalitätsrate.

PCV2 kann weltweit in der Schweinepopulation nachgewiesen werden (Segales, Allan et al. 2005; Patterson und Opriessnig 2010), wobei viele Tiere nur subklinisch infiziert sind. PMWS führt zu bedeutenden wirtschaftlichen Einbußen in der Schweineindustrie (Armstrong und Bishop 2004). Weitere Krankheitsbilder wie das Porzine Dermatitis Nephritis Syndrom (PDNS), Enteritiden, respiratorische Erkrankungen und seltener auch Fruchtbarkeitsstörungen werden ebenfalls einer Infektion mit PCV2 zugeschrieben. Zusammengefasst werden diese als „Porcine Circovirus Associated Diseases“ (PCVAD) bezeichnet, wobei PMWS als bedeutendstes Syndrom erachtet wird (Opriessnig, Meng et al. 2007).

In Bezug auf das Auftreten von PMWS zeigen hohe maternale AK-Titer gegen PCV2 eine protektive Wirkung (Allan, Meehan B et al. 2002; Madec, Rose et al. 2008). Hingegen korrelieren tiefe AK-Titer gegen PCV2 im Serum der Sau mit einer erhöhten Ferkelsterblichkeit (Calsamiglia, Fraile et al. 2007). Subklinische Infektionen können aber trotz maternalen AK auftreten (McKeown, Opriessnig et al. 2005; Ostanello, Caprioli et al. 2005). Bei einer Meta-Analyse zur Identifizierung der Risikofaktoren beim Auftreten von PMWS wurde die Kolostrumaufnahme als wichtigster Faktor erachtet (Tomas, Fernandes et al. 2008). Ferkel, welche ohne Kolostrum grossgezogen wurden, erkrankten viermal häufiger als Ferkel, welche nach der Geburt Kolostrum erhielten.

Die Versorgung mit Immunglobulinen erfolgt beim neugeborenen Ferkel durch die Aufnahme von Kolostrum und nicht diaplazentar, da das Schwein über eine Placenta epitheliochorialis verfügt (Brambell 1969; Curtis und Bourne 1971; Butler, Klobasa et al. 1981; Rooke und Bland 2002). Die maximale IgG-Konzentration im Ferkelserum

ist bereits 12 Stunden nach Beginn des Säugens erreicht (Klobasa, Werhahn et al. 1981). Der erreichte IgG-Titer im Serum der Ferkel korreliert dabei positiv mit dem IgG-Gehalt im Kolostrum (Damm, Friggens et al. 2002; Devillers, Le Dividich et al. 2011).

Seit 2008 ist die Mutterschutzimpfung Circovac® (Merial SA, Lyon) in der Schweiz zugelassen. Ziel dieser Impfung ist die Induktion hoher Titer von PCV2-spezifischen AK im Muttertier und damit das Erreichen einer belastbaren passiven Immunität der Ferkel (Goubier, Chapat et al. 2008; Kurmann, Sydler et al. 2011). Diverse Publikationen attestieren der Impfung mit Circovac® neben der Kontrolle von PMWS eine Reduktion der Ferkelmortalität, eine Verbesserung aller Produktionsparameter und einen verminderten Antibiotikaverbrauch (Joisel 2008; Pejsak, Podgorska et al. 2010; Kurmann, Sydler et al. 2011). Zudem konnte auch eine Reduktion des Virusdruckes im Bestand durch vorangegangene Mutterschutzimpfungen erreicht werden (Kurmann, Sydler et al. 2011).

Weil PMWS häufig erst in der Mast ein Problem darstellt, fordern immer mehr Mäster einen belegbaren Impfstatus der gelieferten Mastferkel. Die erfolgte aktive Impfung der Ferkel in der dritten Lebenswoche mit Porcilis PCV® kann bis zu einem Alter von 12 Wochen mit dem Nachweis von AK gegen das Baculovirus, welches bei der Herstellung der Subunit-Vakzine als Vermehrungsvektor für das Oberflächenprotein ORF2 dient, verifiziert werden (Kuehn 2012). Bei der passiven Immunisierung sind die Konzentrationen und der Abfall der maternalen AK im Ferkelserum von geimpften und ungeimpften Sauen unterschiedlich und von vielen Faktoren abhängig. In den ersten Lebenswochen ist der Unterschied bezüglich PCV2-spezifischen AK-Titern zwar signifikant, erreicht aber um die Zeit der Einstellung in die Mast ähnlich tiefe, nicht mehr unterscheidbare Titerwerte (Kurmann, Sydler et al. 2011). Somit müssten die unterschiedlichen AK-Titerwerte von Ferkeln von geimpften und ungeimpften Muttersauen relativ früh nach der Geburt gemessen werden können.

IgG kommen im Körper nicht nur intravaskulär vor, sondern es findet auch ein Transport von IgG ins Gewebe statt. Mit Hilfe der Barmbell Rezeptoren, FcRn, können die IgG über Transzytose aus dem Serum aufgenommen und in die interstitielle Flüssigkeit abgegeben oder wieder zur Zirkulation zurückgeführt werden. Eine weitere Möglichkeit der Extravaskularisation von IgG ins Interstitium bildet die Konvektion über parazelluläre und lymphatische Poren. Aufgrund deren Siebfunktion ergibt sich ein Gradient zwischen dem Serum und der interstitiellen Flüssigkeit, wobei

von einer tieferen IgG-Konzentration im Interstitium als im Serum ausgegangen werden muss. Beide Konzentrationen stehen aber in einem definierten Gleichgewicht zueinander (Lobo, Hansen et al. 2004; Wang, Wang et al. 2008).

Zum Nachweis einer erfolgten Mutterschutzimpfung sind Blutentnahmen bei den Muttersauen oder Ferkeln häufig unumgänglich. Sie sind jedoch zeitaufwändig und bedeuten einen grossen Stress für Mensch und Tier. In dieser Arbeit testeten wir daher die PCV2-spezifische AK-Bestimmung aus der Hodengewebsflüssigkeit unter Verwendung des SERELISA® PCV2 Ab Mono Blocking Systems zur Dokumentation der erfolgten Impfung der Sau mit Circovac®. Dabei wurden die AK-Titer in der Hodengewebsflüssigkeit mit den Serumwerten der Ferkel, den Serumwerten ihrer Mütter und den AK-Titern im Kolostrum verglichen. Für die Umsetzung in der Praxis wurde die minimale Stichprobe der zu testenden Ferkel zur sicheren Unterscheidung, ob die Ferkel von geimpften oder ungeimpften Muttertieren abstammen, berechnet.

### **3 Tiere, Material und Methoden**

#### **3.1 Versuchsaufbau und Impfprotokoll**

Die Untersuchung wurde auf einem Mastferkelproduktionsbetrieb mit 130 Sauen der Rasse Edelschwein durchgeführt. 12 zufällig ausgewählte Muttersauen wurden in der 8. und 11. Trächtigkeitswoche mit 2 ml inaktivierter PCV2-Vakzine (Circovac<sup>®</sup>, Merial SA, Lyon) tief intramuskulär in die Nackenmuskulatur geimpft. 2 ml enthalten  $\geq 2.1 \log_{10}$  Antigeneinheiten, 0.2 mg Thiomersal und 500 mg dünnflüssiges Paraffin als Adjuvans. 10 Sauen dienten als Kontrollgruppe, denen in der 8. und 11. Trächtigkeitswoche je 1.4 ml desselben Adjuvans injiziert wurde. Der Impferfolg wurde mittels Bestimmung der PCV2-spezifischen AK (SERELISA<sup>®</sup> PCV2 Ab Mono Blocking Systems) im Serum der Sauen und der Ferkel, im Kolostrum und in der Hodengewebsflüssigkeit kastrierter Ferkel ermittelt. Ein Wurfausgleich durfte nicht vorgenommen werden.

#### **3.2 Blutentnahme zur Serumgewinnung**

Unmittelbar vor der 1. Impfung wurde den Sauen der Impfgruppe, wie auch den Sauen der Kontrollgruppe 10 ml Blut zur Serumgewinnung aus der Vena jugularis entnommen (B0). Eine zweite Blutentnahme (B1) erfolgte in der 15. Trächtigkeitswoche zur Überprüfung des Impferfolges. Den männlichen Ferkeln wurde direkt anschliessend an die Kastration am 7. Tag (B2) 2-5 ml Blut aus der Vena jugularis entnommen. Eine weitere Blutentnahme erfolgte beim Absetzen um den 26. Tag (B3).

#### **3.3 Kolostrumgewinnung**

Den Sauen der Impf- wie auch der Kontrollgruppe wurde jeweils intrapartum und vor dem ersten Saugakt durch die Ferkel 10 ml Kolostrum aus möglichst allen Gesäugekomplexen abgemolken. Die Kolostrumproben wurden anschliessend bei 4°C senkrecht stehend aufbewahrt. Rund 36 Stunden nach der Gewinnung wurde das Milchserum in ein Proberöhrchen abpipettiert und bei -20°C eingefroren.

#### **3.4 Gewinnung von Hodengewebsflüssigkeit**

112 männliche Ferkel wurden am 7. Tag post partum unter Isoflurannarkose durch den Produzenten gemäss den gesetzlichen Vorschriften in der Schweiz kastriert. Beide Hoden wurden in einem konischen Gefäss aufgefangen und anschliessend bei -20°C eingefroren. Für die Gewinnung der Hodengewebsflüssigkeit wurden zwei



Gefrier-Tau-Zyklen durchgeführt und die dabei austretende Gewebsflüssigkeit (0.5 – 1 ml) abpipettiert.

Versuchsweise wurden 19 einzelne Hoden vor den beiden Gefrier-Tau-Zyklen zuerst noch mechanisch mit einem Skalpell zerkleinert. Der zweite Hoden des entsprechenden Ferkels wurde nach der im ersten Abschnitt erwähnten Methode untersucht. Bezüglich der ELISA-Werte bestand zwischen den beiden Methoden kein signifikanter Unterschied. Überdies entstand beim „Hodenbrei“ auch weniger abpipettierbare Gewebsflüssigkeit. Das Gefrieren und Auftauen ganzer Hoden erwies sich somit als einfacher und ergiebiger.

### **3.5 Serologische Untersuchungen**

Zur Bestimmung der IgG-Werte in Serum, Kolostrum und Gewebsflüssigkeit der Hoden wurde ein kompetitiver ELISA (SERELISA® PCV2 Ab Mono Blocking Systems, Synbiotics Corporation Europe SAS, Lyon) angewendet (Guillossou, Lebon et al. 2008). Die Anwendung des Testkits, die Datenanalyse sowie die Umwandlung der Daten in ELISA Units (EU) wurde entsprechend den Anweisungen des Herstellers ausgeführt. Um die Streuwerte zwischen den verschiedenen ELISA-Platten möglichst gering zu halten, wurden die gemessenen Extinktionswerte zuerst mittels einer zusätzlichen positiven und negativen Kontrolle und durch Bildung deren Mittelwertes und unter Einbezug einer weiteren definierten internen Kontrolle rechnerisch angeglichen (Kurmman, Sydler et al. 2011). Die maximal messbare obere Grenze des ELISAs liegt bei 20'000 ELISA-Units.

Da die Immunglobuline im Kolostrum angereichert werden und somit die entsprechenden Werte im Serum um ein Vielfaches übersteigen (Porter 1969; Curtis und Bourne 1971; Rooke und Bland 2002; Le Dividich, Rooke et al. 2005), wurden alle Milchseren zusätzlich mit der im Testkit enthaltenen Probeverdünnungslösung im Verhältnis 1:20 verdünnt um eine Saturierung des ELISA zu verhindern. Anschliessend wurde der ELISA wie vom Hersteller beschrieben mit den Verdünnungsreihen 1:100, 1:1'000 und 1:10'000 durchgeführt. Die erhaltenen ELISA-Units wurden dann wieder mit dem Faktor 20 multipliziert um die effektiven Nominalwerte zu berechnen. Ebenfalls wurden Blutseren und Hodengewebsflüssigkeitsproben, welche ELISA-Units von  $\geq 20'000$  erhielten, noch einmal mit einer Verdünnung von 1:3 wiederholt. Die Verdünnung und

anschliessende Berechnung der Nominalwerte fand analog der Kolostrumproben statt.

### **3.6 PCR**

PCV2 Templates im Serum der Muttersauen wurden mit Hilfe des FastStart SYBR Green Master (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) quantitativ gemessen (nicht publizierte Methodik).

### **3.7 Statistische Auswertungen**

Statistisch signifikante Unterschiede wurden aufgrund der nicht parametrisch verteilten Daten (getestet mit dem Shapiro Wilk Test) mit dem Wilcoxon-Rangsummentest berechnet. Hierbei wurde eine Signifikanzgrenze von  $p \leq 0.05$  festgelegt. Für die Beurteilung von Korrelationen wurde der Spearmans Rangkorrelationskoeffizient ( $r_s$ ) angewendet. Mit Hilfe einer ROC-Analyse der AK-Titer in der Hodengewebsflüssigkeit berechneten wir den optimalen Schwellenwert zur Unterscheidung zwischen Ferkeln von geimpften und ungeimpften Muttersauen. Die statischen Analysen wurden mit dem Programm JMP<sup>®</sup> 9.0.0 (SAS Institute Inc.) durchgeführt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Muttersauen

#### 4.1.1 PCR der Seren der Muttersauen

Die Seren der Muttersauen vor der ersten Impfung wurden mit Hilfe eines quantitativen PCR auf das Vorhandensein von PCV2-Genomfragmenten untersucht. Bei keiner Muttersau konnten PCV2-DNA-Kopien im Serum nachgewiesen werden.

#### 4.1.2 PCV2-spezifische AK-Titer im Serum und Kolostrum

Mit Hilfe des SERELISA® PCV2 Ab Mono Blocking Systems wurden die AK-Titer gegen PCV2 vor der erfolgten Impfung (B0), nach abgeschlossener Grundimmunisierung respektive nach zweimaliger Placebo-Injektion (B1) und im Kolostrum der Muttersauen nachgewiesen. Die gemessenen AK-Titer bei geimpften und ungeimpften Muttersauen sind in Tabelle 1 ersichtlich.

**Tabelle 1:** Übersicht über die PCV2-spezifischen AK-Titer (ELISA-Units) im Serum und im Kolostrum von geimpften und ungeimpften Muttersauen

<b>geimpfte Muttersauen</b>	<b>B0 (EU)</b>	<b>B1 (EU)</b>	<b>Kolostrum (EU)</b>
001	147	30'309	232'920
002	666	11'148	99'380
003	3'597	46'938	52'400
004	11'379	48'069	184'300
005	78	17'505	46'220
006	1'221	25'050	58'980
007	9'234	38'481	68'280
008	3'024	41'643	152'340
009	954	17'799	48'400
010	84	24'321	38'980
011	3'528	16'014	62'540
012	1'590	33'725	144'760
<b>ungeimpfte Muttersauen</b>	<b>B0 (EU)</b>	<b>B1 (EU)</b>	<b>Kolostrum (EU)</b>
013	528	462	3'000
014	1'317	750	3'160
015	5'064	3'723	2'900
016	8'850	1'974	4'280
017	19'347	10'299	47'160
018	315	213	220
019	744	87	1'440
020	4'245	552	2'360

ungeimpfte Muttersauen	B0 (EU)	B1 (EU)	Kolostrum (EU)
021	438	390	520
022	216	354	560

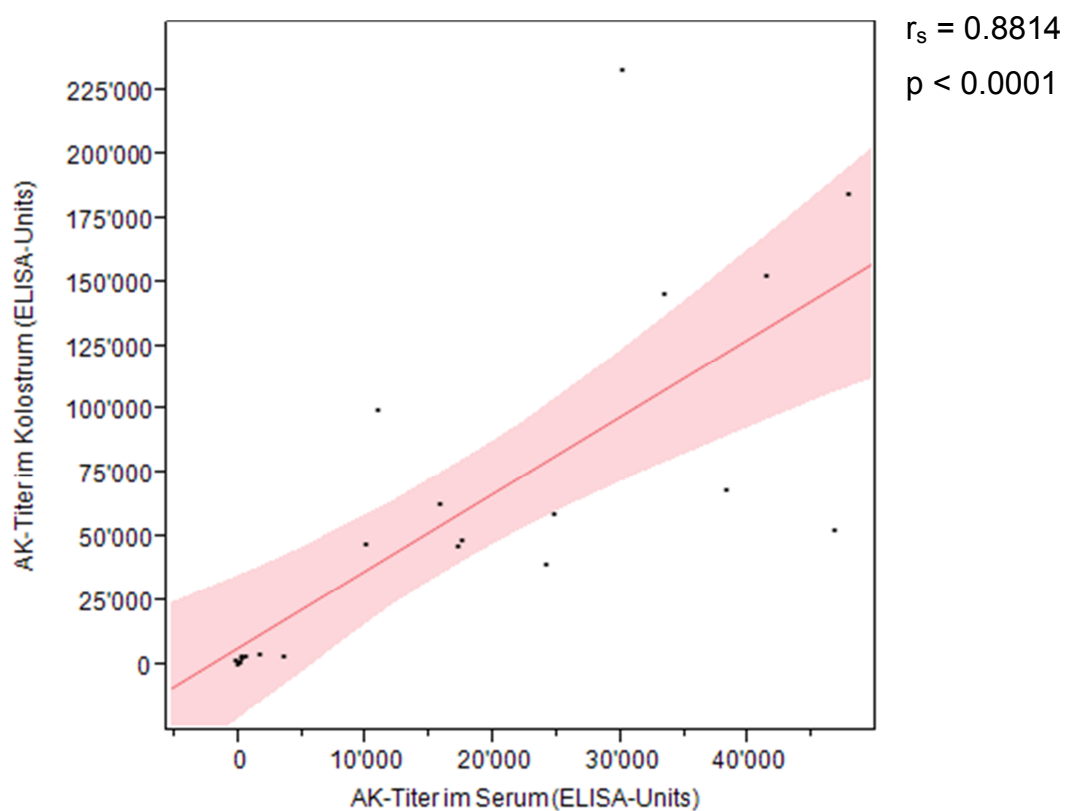
B0: Blutentnahme vor der ersten Impfung mit Circovac®

B1: Blutentnahme nach abgeschlossener Grundimmunisierung resp. zweimaliger Placebo-Injektion

Zum Zeitpunkt B0 bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den AK-Titern der Muttersauen im Serum ( $p = 0.8175$ ). Nach der Grundimmunisierung mit Circovac® konnte bei der Impfgruppe ein signifikanter Anstieg der AK gegen PCV2 im Blut nachgewiesen werden ( $p < 0.0001$ ). Die AK-Titer in der Kontrollgruppe, welcher Adjuvans injiziert wurde, blieben unverändert ( $p = 0.3447$ ).

Die Menge an PCV2-spezifischen AK im Kolostrum von geimpften und ungeimpften Muttersauen unterschied sich ebenfalls signifikant ( $p = 0.0001$ ).

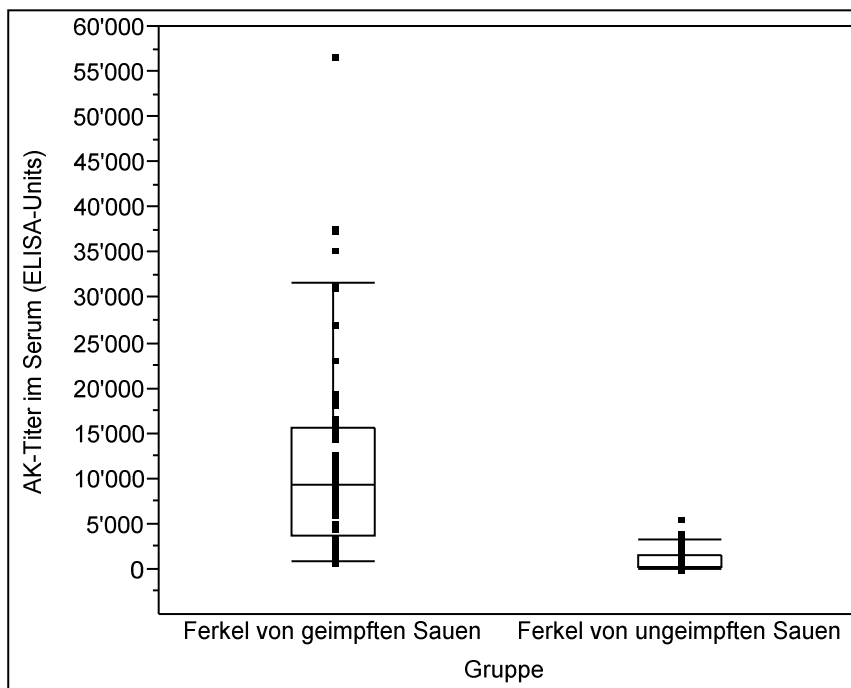
Zwischen den AK-Titern im Kolostrum und den entsprechenden Werten im Serum der einzelnen Muttersauen bestand ein sehr enger Zusammenhang ( $r_s = 0.8814$ ) (Abbildung 1), welcher hochsignifikant war ( $p < 0.0001$ ).



**Abbildung 1:** Korrelation zwischen den AK-Titern im Serum und im Kolostrum der Muttersauen.

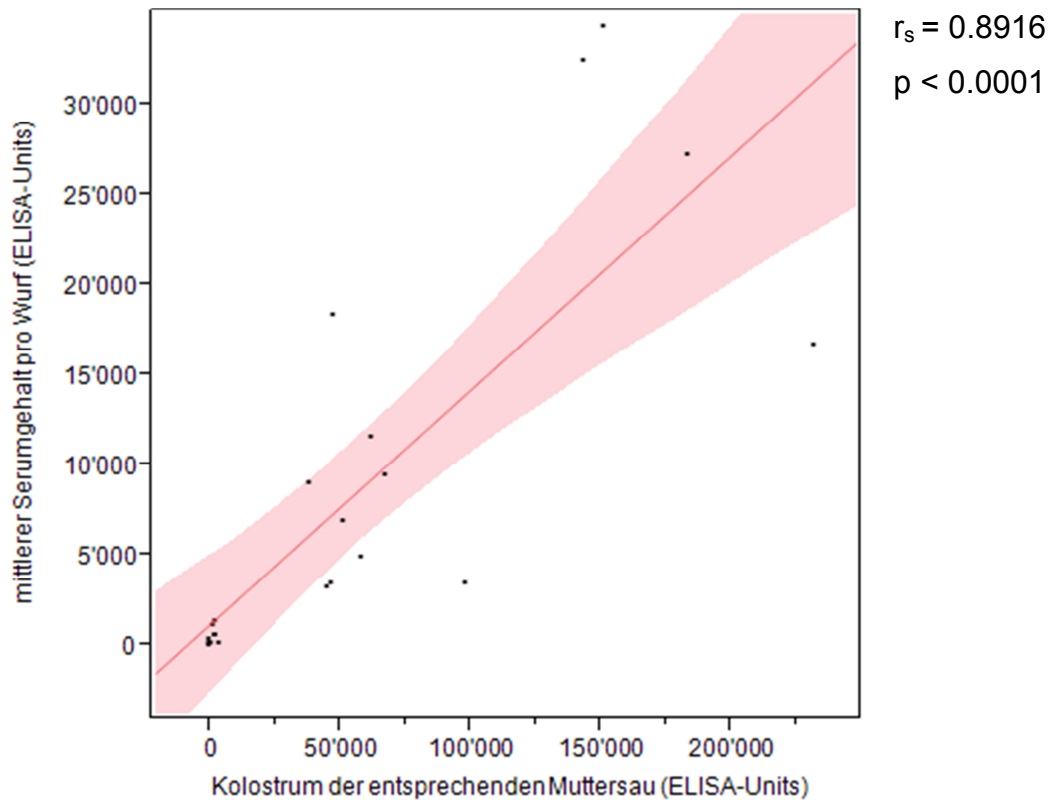
## 4.2 Ferkel

Zum Zeitpunkt der Kastration am 7. Lebenstag wurden von den geimpften Muttersauen 59 männliche Ferkel getestet, während die Kontrollgruppe 53 männliche Ferkel umfasste. Die gemessenen PCV2-spezifischen AK-Titer im Serum der Ferkel aus Würfen mit geimpften Muttersauen unterschieden sich dabei signifikant von denen der Kontrollgruppe ( $p < 0.0001$ ) (Abbildung 2). Bei den Ferkeln von geimpften Muttersauen lag der Median bei 9'362 EU mit einem Minimum bei 774 EU und einem Maximum bei 56'844 EU. Bei den Ferkeln aus der Kontrollgruppe waren die Werte deutlich tiefer. Die Werte reichten von minimal 18 EU bis maximal 5'584 EU mit einem Median von 247 EU.



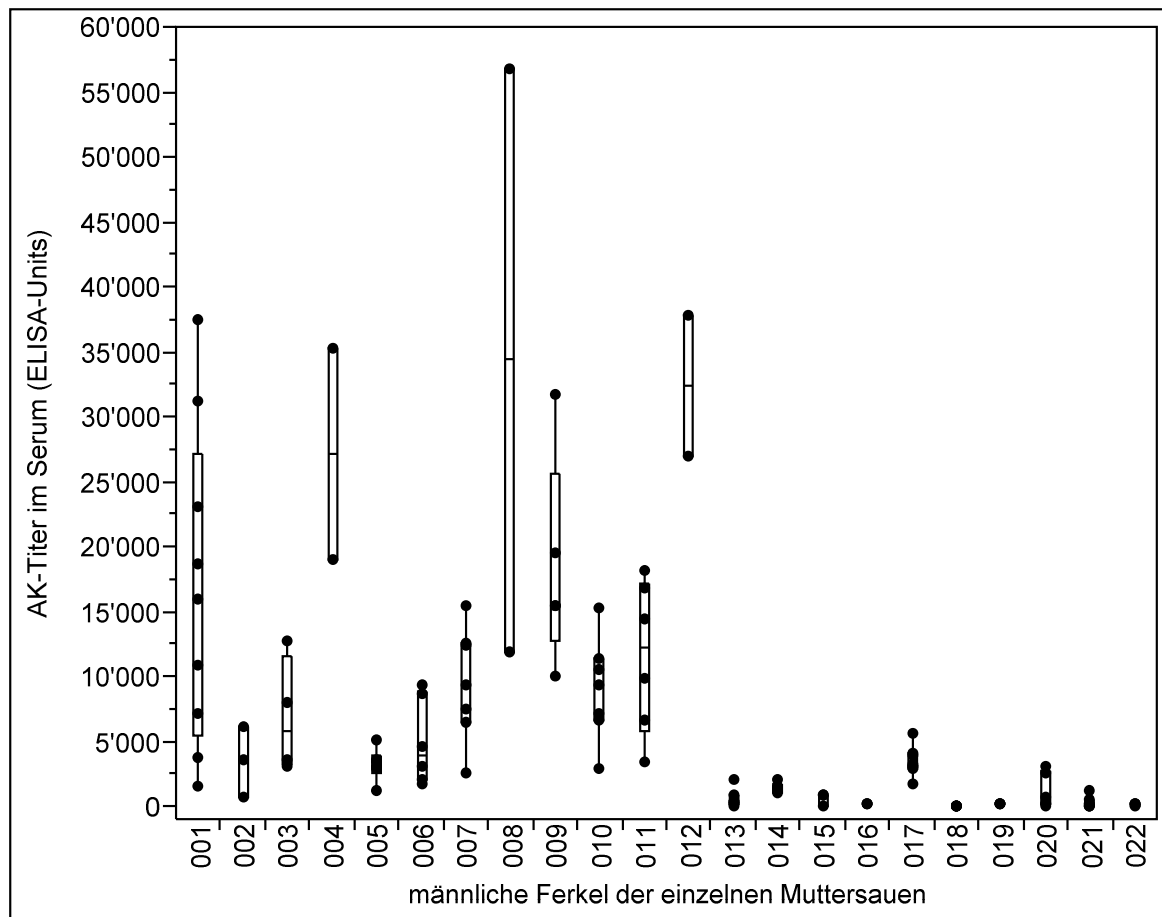
**Abbildung 2:** PCV2-spezifische AK-Titer im Serum der Ferkel zum Zeitpunkt der Kastration.

Die gemessenen PCV2-spezifischen Antikörper-Titer im Kolostrum korrelierten sehr eng mit den mittleren Serum-Antikörperkonzentrationen eines Wurfes ( $r_s = 0.8916$ ) (Abbildung 3). Der Signifikanztest dieser Korrelation zeigt mit  $p < 0.0001$  ein hochsignifikantes Ergebnis.



**Abbildung 3:** Korrelation des mittleren PCV2-spezifischen AK-Gehaltes eines Wurfs mit dem AK-Titer im Kolostrum der dazugehörenden Muttersau.

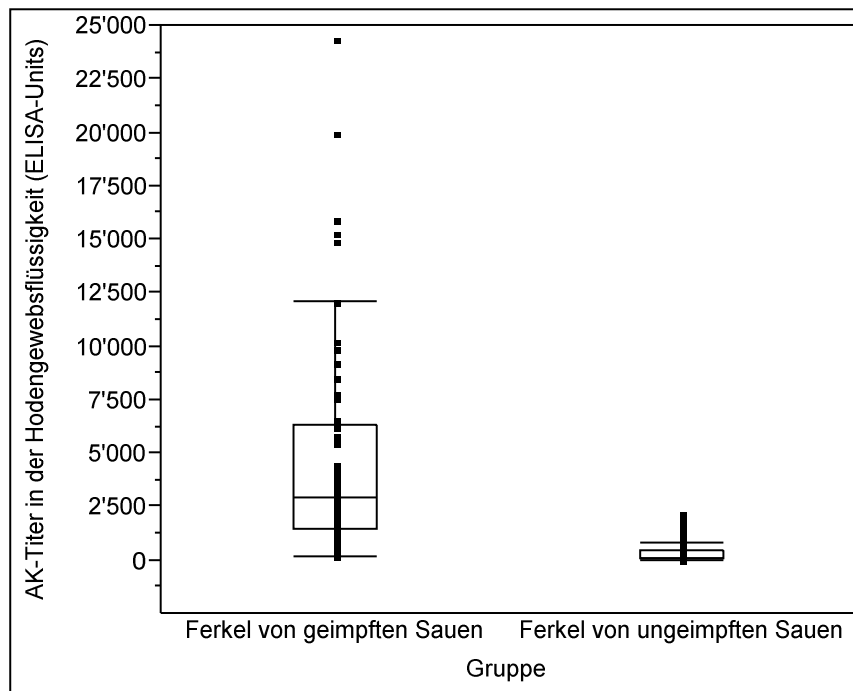
Bezüglich der PCV2-spezifischen AK-Titer im Serum und Kolostrum kam es bei den Muttersauen innerhalb der Impf- und der Kontrollgruppe zu grossen Streuungen. Ebenso wiesen die einzelnen Ferkel eines Wurfs stark unterschiedliche AK-Titer im Serum auf, was in der Abbildung 4 ersichtlich wird.



**Abbildung 4:** PCV2-spezifische AK-Titer im Serum der Ferkel zum Zeitpunkt der Kastration (7. Tag pp).

Die Boxplots zeigen die AK-Titer im Serum der Ferkel bei der Kastration. Ein Boxplot repräsentiert die männlichen Ferkel eines Wurfs. Die Werte der einzelnen Ferkel sind als Punkte dargestellt. Die Muttersauen Nr. 001-012 gehören zur Impfgruppe, während die Muttersauen 013-022 zur Kontrollgruppe gehören.

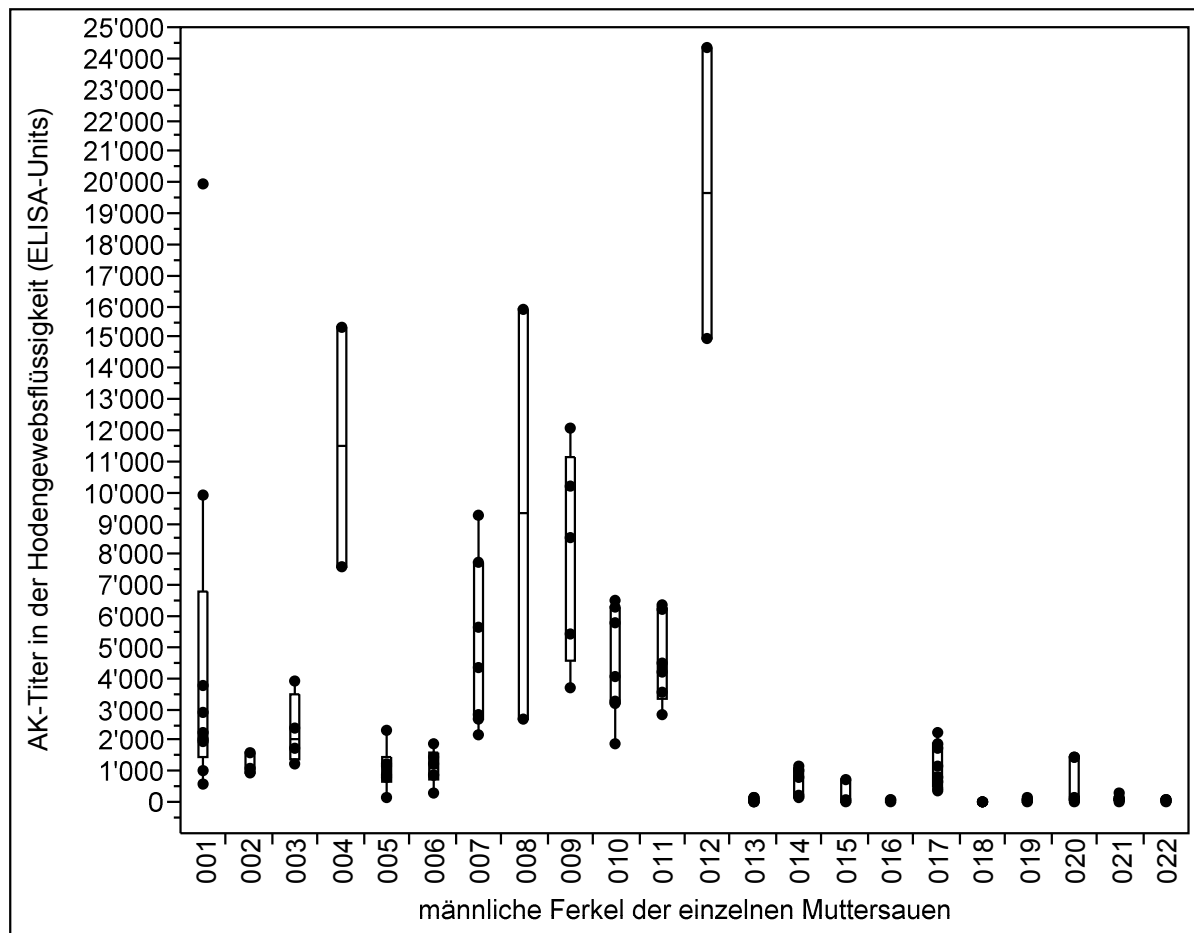
Die gemessenen PCV2-spezifischen Antikörper-Titer in der Hodengewebssäure von Ferkeln aus der Impf- und aus der Kontrollgruppe unterschieden sich ebenfalls signifikant ( $p < 0.001$ ) (Abbildung 5). Bei den Ferkeln von geimpften Muttersauen lag der Median bei 2'905 EU mit einem Minimum bei 185 EU und einem Maximum bei 24'327 EU. Bei den Ferkeln aus der Kontrollgruppe lagen die AK-Titer deutlich unterhalb dieser Werte. Die Werte reichten von minimal 0 EU bis maximal 2'218 EU bei einem Median von 97 EU.



**Abbildung 5:** PCV2-spezifische AK-Titer in der Hodengewebsflüssigkeit der Ferkel zum Zeitpunkt der Kastration.

Das Verteilungsmuster innerhalb der einzelnen Würfe und unter den Muttersauen, welches in der Abbildung 4 gezeigt werden konnte, findet sich auch in einer ähnlichen Darstellung mit den AK-Titern in der Hodengewebsflüssigkeit pro Wurf wieder (Abbildung 6).

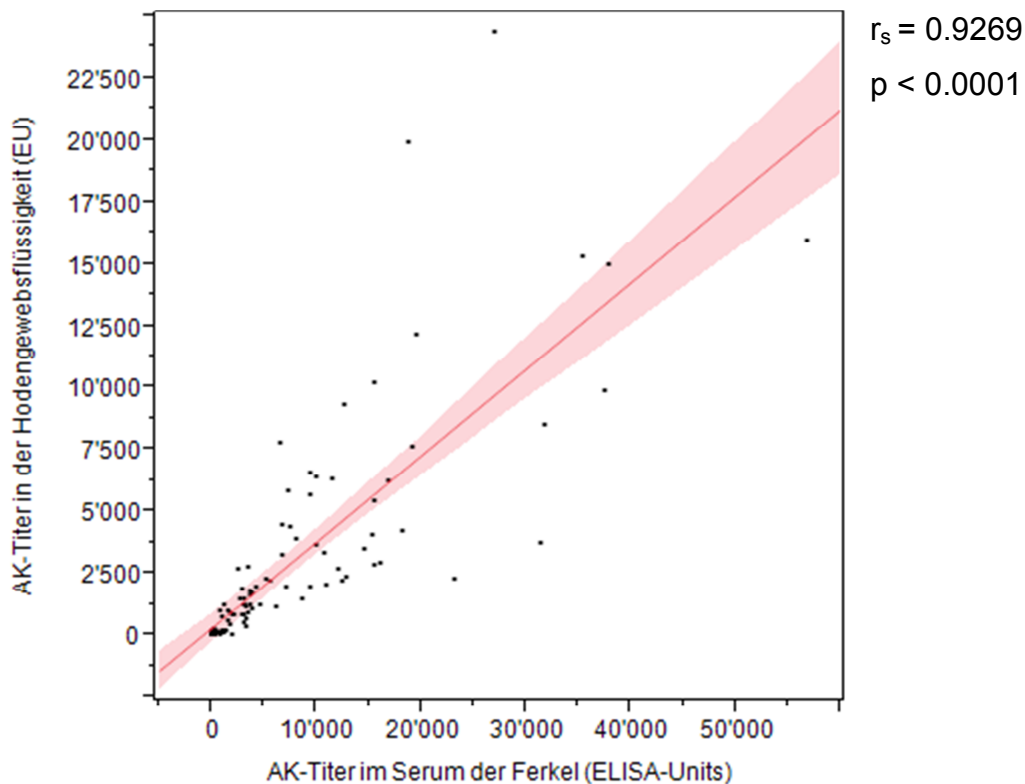




**Abbildung 6:** PCV2-spezifische AK-Titer in der Hodengewebsflüssigkeit der Ferkel zum Zeitpunkt der Kastration (7. Tag pp).

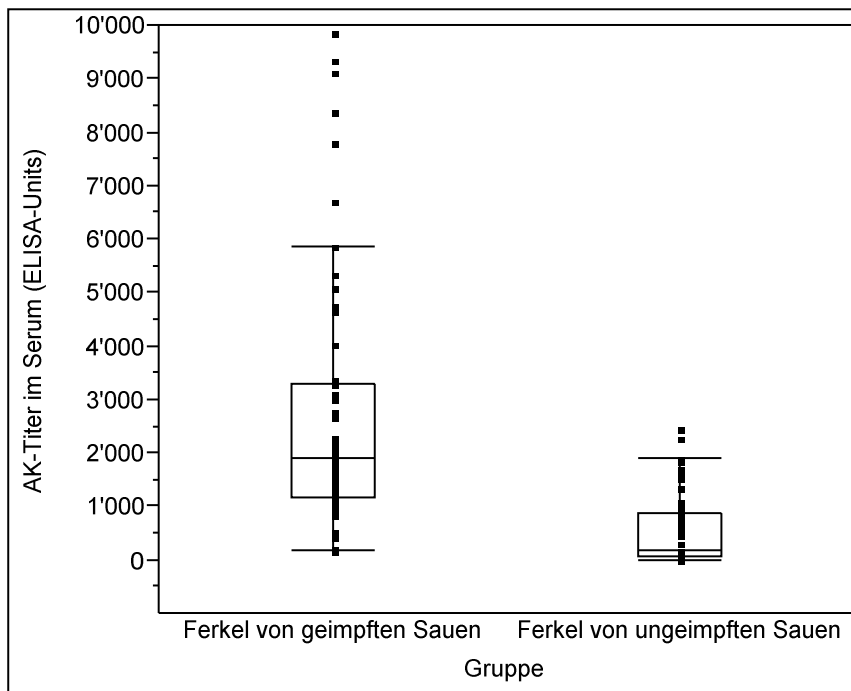
Die Boxplots zeigen die AK-Titer in der Hodengewebsflüssigkeit der Ferkel bei der Kastration. Ein Boxplot repräsentiert die männlichen Ferkel eines Wurfes. Die Werte der einzelnen Ferkel sind als Punkte dargestellt. Die Muttersauen Nr. 001-012 gehören zur Impfgruppe, während die Muttersauen Nr. 013-022 zur Kontrollgruppe gehören.

Zwischen den AK-Titern im Serum zum Zeitpunkt der Kastration und den AK-Titern in der Hodengewebsflüssigkeit bestand eine sehr enge Korrelation ( $r_s = 0.9269$ ) (Abbildung 7), welche ebenfalls hochsignifikant war ( $p < 0.0001$ ). Die AK-Titer in der Hodengewebsflüssigkeit waren im Durchschnitt um den Faktor 4.3 niedriger als die entsprechenden Werte im Serum.



**Abbildung 7:** Korrelation zwischen den PCV2-spezifischen AK-Titern im Serum und in der Hodengewebssäure der einzelnen Ferkel zum Zeitpunkt der Kastration.

Zum Zeitpunkt des Absetzens, also 19 Tage nach erfolgter Kastration, hatte sich die Zahl der männlichen Ferkel in der Impfgruppe von 59 auf 54 reduziert und in der Kontrollgruppe waren ebenfalls fünf Ferkel verendet. Auch beim Absetzen war ein signifikanter Unterschied zwischen der Impf- und der Kontrollgruppe bezüglich den PCV2-spezifischen AK-Titern im Serum feststellbar ( $p < 0.0001$ ) (Abbildung 8). Bei den Ferkeln der Impfgruppe fielen die AK-Titer vom Zeitpunkt der Kastration bis zum Absetzen um das 5.96-fache ab, wobei in den Messergebnissen zwischen den beiden Zeitpunkten nach wie vor ein signifikanter Unterschied nachweisbar war ( $p < 0.0001$ ). Bei den Ferkeln der Kontrollgruppe hingegen blieben die AK-Titer unverändert tief ( $p = 0.1582$ ) (Vergleiche Abbildung 2 und 8).



**Abbildung 8:** PCV2-spezifische AK-Titer im Serum der Ferkel beim Absetzen (26. Tag pp).

#### 4.3 ROC-Analyse der AK-Titer der Hodengewebsflüssigkeit

Mit Hilfe einer ROC-Analyse wurde der optimale Schwellenwert zur Unterscheidung zwischen Hodengewebsflüssigkeiten von Ferkeln aus der Impf- und aus der Kontrollgruppe festgelegt. Bei 819 ELISA-Units waren 88.9 % der Ferkel richtig klassifiziert (Sensitivität: 94.92 %, Spezifität: 79.82 %).

Aufgrund der möglichen Streuung innerhalb der einzelnen Würfe reicht die Testung eines einzelnen Ferkels nicht aus, um eine klare Aussage über den Impfstatus des Muttertieres respektive des Betriebes zu erhalten. Bei den Berechnungen gingen wir von der Annahme aus, dass der zu untersuchende Betrieb entweder alle oder keine Muttersauen geimpft hat. Mit Hilfe der Binominalverteilung lässt sich nun berechnen, mit welcher Wahrscheinlichkeit die Tiere im Falle eines positiven Ergebnisses aus einem geimpften Betrieb und im Falle eines negativen Ergebnisses aus einem ungeimpften Betrieb stammen. Es wurde maximal ein falsch positives oder ein falsch negatives Testresultat toleriert. Wählen wir also eine Stichprobengrösse von fünf zu untersuchenden Ferkeln pro Betrieb, so erhalten wir eine Sicherheit von 97.67 %, dass die Ferkel von geimpften Muttersauen abstammen, wenn mindestens vier gemessene AK-Titer oberhalb von 819 ELISA-Units liegen. Im umgekehrten Fall,

wenn also mindestens vier Ferkel unterhalb des Schwellenwertes liegen, stammen die Ferkel mit einer Sicherheit von 73.36 % aus einem ungeimpften Betrieb.

## 5 Diskussion

In dieser Arbeit wurde der Frage nachgegangen, ob sich die Hodengewebsflüssigkeit als Untersuchungsmedium für AK-Titer gegen PCV2 eignet. Aufgrund der Tatsache, dass die AK nicht nur im Serum, sondern auch in der Lymphe, in der interstitiellen Flüssigkeit und intrazellulär vorhanden sind, gelang es uns, relevante Mengen an maternalen AK gegen PCV2 auch in der Hodengewebsflüssigkeit zu messen. Die gemessenen Werte im Serum und in der Hodengewebsflüssigkeit korrelierten dabei sehr stark, wobei wir feststellen konnten, dass die AK-Menge in der Hodengewebsflüssigkeit durchschnittlich 23 % des entsprechenden Wertes im Serum beträgt.

Die Daten zeigen zudem, dass auf Wurfebene die Serومتiter der PCV2-spezifischen AK der neonatalen Ferkel sehr eng mit dem AK-Gehalt des Kolostrums der Muttersau korrelieren.

Innerhalb der einzelnen Würfe kam es jedoch zu grossen Streuungen in Bezug auf die AK-Titer im Serum und in der Hodengewebsflüssigkeit der einzelnen Ferkel. Die Werte der einzelnen Ferkel aus der Impfgruppe überschritten sich zudem teilweise mit den Werten von Ferkeln aus der Kontrollgruppe. Eine mögliche Erklärung hierfür könnten folgende Arbeiten liefern: Schröder (Schröder 2001) untersuchte die Immunglobulinversorgung der Ferkel unter Berücksichtigung verschiedener Geburtsparameter. Die Geburtsreihenfolge hatte dabei einen signifikanten Einfluss auf die IgG-Konzentration im Serum der Ferkel. Die höchsten Werte wurden bei den Ferkeln beobachtet, welche an 4. - 6. Stelle geboren wurden, während die Serumkonzentration bei den zuletzt geborenen am tiefsten lag. Auch Damm et al., (Damm, Friggens et al. 2002) stellten in einer Untersuchung über die passive Immunisierung von Ferkeln anhand von Antikörpern gegen PPV eine grosse Streuung der AK-Titer innerhalb der einzelnen Würfe fest. Die AK-Titer wurden dabei negativ durch die verstrichene Zeit von der Geburt bis zum ersten Saugakt und positiv durch die totale Länge des Saugaktes beeinflusst. Die von uns gemessene grosse Streuung innerhalb der einzelnen Würfe ist somit ein Faktor, der bei der Interpretation der AK-Titer unbedingt miteinbezogen werden sollte. Somit ziehen wir die Schlussfolgerung, dass die Messung der AK-Titer, sei es im Serum oder in der Hodengewebsflüssigkeit, nur nach Durchführung mehrerer Stichproben einen Rückschluss über den Impfstatus eines Betriebes erlaubt. Wir empfehlen als minimale Stichprobengrösse fünf zu untersuchende Ferkel, wobei diese willkürlich

und über mehrere Würfe verteilt ausgesucht werden sollten. Bei unklaren Befunden, das heisst, wenn zwei oder drei Ferkel unterhalb respektive oberhalb des Schwellenwertes liegen, müssten noch einmal fünf weitere Tiere beprobt werden. Sollten die Befunde wiederholt unklar ausfallen, wäre zum Beispiel eine inhomogene Impfung der Muttersauen denkbar.

Bei der ROC-Analyse der AK-Titer in der Hodengewebssäure der Ferkel erhielten wir einen Schwellenwert von 819 ELISA-Units, mit dessen Hilfe wir zwischen Ferkeln von geimpften und ungeimpften Muttersauen unterscheiden können. Dieser Wert wurde durch unseren Versuch mit 22 Muttersauen und deren 112 männlichen Ferkeln erhoben. Für einen verbindlich festgelegten Schwellenwert müsste eine grössere Anzahl Ferkel und unterschiedliche Betriebe getestet werden. Zudem dürften sich die Werte auch zwischen den einzelnen Labors unterscheiden. Somit müsste jedes Labor seinen Schwellenwert mit den ihm zur Verfügung stehenden Daten eigens berechnen und ständig überprüfen.

Die Daten im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden bei Ferkeln erhoben, die am 7. Tag post partum kastriert wurden. Bezüglich des Abfalls der PCV2-spezifischen maternalen AK werden in der Literatur unterschiedliche Zahlen genannt (Opriessnig, Yu et al. 2004; McKeown, Opriessnig et al. 2005; Kurmann, Sydler et al. 2011). Um die Sicherheit des Tests zu erhöhen, sollte die Kastration der Ferkel daher immer im gleichen Alter erfolgen. Hodengewebssäure als Untersuchungsmaterial für die serologische Diagnostik wird in Deutschland bereits im Rahmen von Bestandesüberwachungen verwendet (Hensch, Veltmann et al. 2008). Dabei lässt die Bestimmung des AK-Titers in der Hodengewebssäure Rückschlüsse über den aktuellen Infektionsstatus mit PCV2, Schweine Influenza Virus (SIV), Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome Virus (PRRSV), *M. hyopneumoniae* und Salmonellen zu.

Analog zu den Untersuchungen mit Circovac® wäre mit Hilfe der AK-Titerbestimmung in der Hodengewebssäure auch die Überprüfung der Impferfolge anderer Mutterschutzimpfungen denkbar. Zusätzlich bieten Messungen der AK-Titer bei Ferkeln auch die Möglichkeit Mängel oder Managementfehler in Bezug auf die Impftechnik oder bei der Kolostrumversorgung der Ferkel aufzudecken.

Die Messung von AK-Titern in der Hodengewebssäure bietet somit nicht nur eine verlässliche Methode zur Überprüfung einer erfolgten Mutterschutzimpfung mit

Circovac<sup>®</sup>. Es ergeben sich für die Zukunft auch weitere Anwendungsmöglichkeiten für die Hoden als Untersuchungsmedium.

## 6 Referenzen

- Allan, G., Meehan B, et al. (2002). "Passive transfer of maternal antibodies to pcv2 protects against developement of postweaning multisystmic wasting syndrom (PMWS) : experimental infection and field study." *The Pig Journal* 50: 59-67.
- Allan, G. M. and J. A. Ellis (2000). "Porcine circoviruses: a review." *J Vet Diagn Invest* 12(1): 3-14.
- Armstrong, D. and S. Bishop (2004). Does genetics or little effects influence mortality in pmws. *Proceeding of the 18th IPVS Congress, Hamburg*.
- Brambell, F. W. (1969). "The transmission of immune globulins from the mother to the foetal and newborn young." *The Proceedings of the Nutrition Society* 28(1): 35-41.
- Butler, J. E., F. Klobasa, et al. (1981). "The differential localization of IgA, IgM and IgG in the gut of suckled neonatal piglets." *Veterinary immunology and immunopathology* 2(1): 53-65.
- Calsamiglia, M., L. Fraile, et al. (2007). "Sow porcine circovirus type 2 (PCV2) status effect on litter mortality in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)." *Research in veterinary science* 82(3): 299-304.
- Curtis, J. and F. J. Bourne (1971). "Immunoglobulin quantitation in sow serum, colostrum and milk and the serum of young pigs." *Biochimica et biophysica acta* 236(1): 319-332.
- Damm, B. I., N. C. Friggens, et al. (2002). "Factors affecting the transfer of porcine parvovirus antibodies from sow to piglets." *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine* 49(9): 487-495.
- Devillers, N., J. Le Dividich, et al. (2011). "Influence of colostrum intake on piglet survival and immunity." *Animal* 5:10: 1605-1612.
- Goubier, A., L. Chapat, et al. (2008). "Transfer of maternal immunity from sows vaccinated against PCV2 with Circovac to their piglets-." *Proc. 20th Int. Pig Vet. Soc. Congress, Durban South Africa* 1: 16.
- Guillosoy, S., E. Lebon, et al. (2008). Developement of a quantification method to specific anti-ORF2 antibody using a blocking ELISA. *Proc 20th Int Pig Vet Soc Congress, Durban South Africa Vol. 2*, 402, Durban.
- Harding, J. and E. Clark (1997). "Recognizing and diagnosis postweaning multisystemic wasting syndrom." *Swine Health and Poduction* 5(5): 201-203.



- Hensch, A., H. Veltmann, et al. (2008). Hoden von kastrierten Ferkeln als Probematerial für serologische Diagnostik von Virusinfektionen der Sau. 27. Arbeits- und Fortbildungstagung Virologie, Kloster Banz, Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft.
- Joisel, F., Charreyre C, et al. (2008). "Vaccination of Sows and Gilts against PCV2 Diseases: Field Experiences in Europe." *Advances in Pork Production* 19: 183-195.
- Klobasa, F., E. Werhahn, et al. (1981). "Regulation of humoral immunity in the piglet by immunoglobulins of maternal origin." *Res Vet Sci* 31(2): 195-206.
- Kuehn, T. (2012). SERELISA PCV2-Ab and BACUCHECK: a model for compliance testing following the vaccination of piglets against PCV2. Lisbon.
- Kurmann, J., T. Sydler, et al. (2011). "Vaccination of dams increases antibody titer and improves growth parameters in finisher pigs subclinically infected with porcine circovirus type 2." *Clinical and vaccine immunology : CVI* 18(10): 1644-1649.
- Le Dividich, J., J. A. Rooke, et al. (2005). "Review: Nutritional and immunological importance of colostrum for the new-born pig." *Journal of Agricultural Science* 143: 469-485.
- Lobo, E. D., R. J. Hansen, et al. (2004). "Antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics." *Journal of pharmaceutical sciences* 93(11): 2645-2668.
- Madec, F., N. Rose, et al. (2008). "Post-weaning multisystemic wasting syndrome and other PCV2-related problems in pigs: a 12-year experience." *Transbound Emerg Dis* 55(7): 273-283.
- McKeown, N. E., T. Opriessnig, et al. (2005). "Effects of porcine circovirus type 2 (PCV2) maternal antibodies on experimental infection of piglets with PCV2." *Clin Diagn Lab Immunol* 12(11): 1347-1351.
- Opriessnig, T., X. J. Meng, et al. (2007). "Porcine circovirus type 2 associated disease: update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies." *J Vet Diagn Invest* 19(6): 591-615.
- Opriessnig, T., S. Yu, et al. (2004). "Derivation of porcine circovirus type 2-negative pigs from positive breeding herds." *Journal of Swine Health and Production* 12(4): 186-191.

- Ostanello, F., A. Caprioli, et al. (2005). "Experimental infection of 3-week-old conventional colostrum-fed pigs with porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus." *Vet Microbiol* 108(3-4): 179-186.
- Patterson, A. R. and T. Opriessnig (2010). "Epidemiology and horizontal transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2)." *Anim Health Res Rev* 11(2): 217-234.
- Pejsak, Z., K. Podgorska, et al. (2010). "Efficacy of different protocols of vaccination against porcine circovirus type 2 (PCV2) in a farm affected by postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)." *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases* 33(6): e1-5.
- Porter, P. (1969). "Transfer of immunoglobulins IgG, IgA and IgM to lacteal secretions in the parturient sow and their absorption by the neonatal piglet." *Biochimica et biophysica acta* 181(2): 381-392.
- Rooke, J. A. and I. M. Bland (2002). "The acquisition of passive immunity in the newborn piglet." *Livestock Production Science* 78(1): 13-23.
- Schröder, C. (2001). "Untersuchung zur Immunglobulinversorgung und Entwicklung neugeborener Ferkel unter besonderer Berücksichtigung verschiedener Geburtsparameter." *Inaugura-Dissertation Tierärztlich Hochschule Hannover*.
- Segales, J., G. M. Allan, et al. (2005). "Porcine circovirus diseases." *Anim Health Res Rev* 6(2): 119-142.
- Tomas, A., L. T. Fernandes, et al. (2008). "A meta-analysis on experimental infections with porcine circovirus type 2 (PCV2)." *Veterinary microbiology* 132(3-4): 260-273.
- Wang, W., E. Q. Wang, et al. (2008). "Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics." *Clinical pharmacology and therapeutics* 84(5): 548-558.

## **7 Dank**

An dieser Stelle möchte ich allen herzlich danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Herrn Dr. Xaver Sidler für die Überlassung des interessanten Themas und die gewährte Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. Mark Suter für die Übernahme des Referates und Herrn Prof. Dr. Roger Stephan für die Übernahme des Korreferates.

Den Herren Dr. Titus Sydler und Dr. Enrico Brugnera für die wertvollen Diskussionen und die Durchsicht der Arbeit.

Herrn Dr. Alois Mathis und Herrn Philipp Käppeli für ihre Unterstützung bei der Vorbereitung dieser Studie und für die Hilfe bei den Probenentnahmen.

Frau Roseline Weilenmann für ihre grosse Unterstützung bei der Laborarbeit und Herrn Paul Torgerson für die Hilfestellung bei allen statistischen Fragestellungen.

## 8 Lebenslauf

Name	Fabienne Künzli
Geburtsdatum	31.5.1982
Geburtsort	Lausanne
Nationalität	Schweiz
Heimatort	Amlikon-Bisegg TG
1988 – 1994	Primarschule, Lutry VD und Wohlen AG
1994 – 1998	Bezirksschule, Wohlen AG
1998 – 2002	Kantonsschule, Wohlen AG
1999 – 2000	Austauschjahr, Neuseeland
29.06.2002	Matura Typ B
08.2002 – 02.2003	Kompaktstudium Japanologie, Universität Zürich, Schweiz
08.2003 – 10.2008	Studium der Veterinärmedizin an der Vetsuisse-Fakultät Zürich, Schweiz
20.10.2008	Diplomübergabe med. vet., Vetsuisse-Fakultät Zürich, Schweiz
10.2008 – 12.2010	Assistentztierärztin in der Gemischtpraxis Mathis, Hold und Uehlinger, Muri AG, Schweiz
08.2010 – 05.2013	Anfertigung der Dissertation unter der Leitung von Dr. FVH X. Sidler, Departement für Nutztiere, Vetsuisse-Fakultät Zürich, Direktor: Prof. Dr. med. vet. Dr. h. c. U. Braun
01.2011 –	Assistentztierärztin in der Gemischtpraxis Casura & Partner AG, Oberentfelden, Schweiz

## 9 Anhang

Tabelle mit der Übersicht der AK-Titer der Ferkel im Serum und in der Hodengewebsflüssigkeit aufgeführt nach den einzelnen Muttersauen

Muttersau	AK-Titer im Kolostrum (ELISA-Units)	B2 (ELISA-Units)	B3 (ELISA-Units)	Hodengewebs- flüssigkeit (ELISA-Units)
001	232'920	37'515	6'705	9'888
		1'531	tot	569
		15'999	2'057	2'905
		10'856	3'368	2'049
		18'717	8'378	19'932
		23'118	5'868	2'247
		31'254	9'869	3'734
		7'062	2'215	1'929
		3'766	1'532	1'022
002	99'380	3'655	1'923	1'626
		6'106	1'376	1'125
		774	886	938
003	52'400	3'610	1'475	1'764
		12'796	1'681	2'360
		3'107	2'010	1'228
		7'954	tot	3'887
004	184'300	19'023	4'651	7'610
		35'346	5'357	15'312
005	46'220	1'166	204	185
		3'558	482	1'187
		5'112	2'103	2'304
		2'976	1'842	819
		3'047	1'875	1'213
		3'430	417	865
006	58'980	2'095	519	855
		1'713	tot	895
		3'150	tot	329

Muttersau	AK-Titer im Kolostrum (ELISA-Units)	B2 (ELISA-Units)	B3 (ELISA-Units)	Hodengewebs- flüssigkeit (ELISA-Units)
		8'634	1'003	1'457
		4'566	979	1'247
		9'396	1'740	1'918
007	68'280	6'464	546	7'759
		2'521	182	2'675
		7'470	2'785	4'372
		9'362	1'717	5'678
		12'541	2'288	9'279
		12'355	1'303	2'192
		15'495	1'271	2'859
008	152'340	56'844	2'678	15'919
		11'924	985	2'691
009	48'400	9'941	480	3'678
		15'373	1'732	5'454
		15'513	2'746	10'203
		31'644	5'076	8'533
		19'522	4'020	12'107
010	38'980	9'254	1'617	6'531
		10'586	1'189	3'295
		15'253	1'385	4'085
		6'671	tot	3'206
		7'147	845	5'816
		11'376	3'274	6'298
		2'892	1'117	1'867
011	62'540	9'912	4'773	6'378
		6'623	7'782	4'482
		18'087	2'984	4'229
		14'436	1'930	3'520
		16'755	3'101	6'243
		3'351	2'212	2'796

Muttersau	AK-Titer im Kolostrum (ELISA-Units)	B2 (ELISA-Units)	B3 (ELISA-Units)	Hodengewebs- flüssigkeit (ELISA-Units)
012	144'760	37'788	9'348	14'939
		27'012	9'103	24'327
013	3'000	171	130	58
		828	170	47
		278	127	65
		215	470	30
		1'974	963	21
		59	18	129
		403	102	129
014	3'160	1'162	187	1'202
		1'371	112	196
		1'559	309	1'010
		1'973	799	800
		1'002	1'095	137
015	2'900	77	tot	16
		943	tot	721
		871	112	69
016	4'280	188	80	36
		138	tot	100
		151	114	57
017	47'160	3'014	1'698	470
		3'310	2'454	674
		2'929	1'644	811
		1'713	2'263	374
		4'096	1'906	1'920
		3'873	1'540	1'713
		5'584	1'869	2'218
		3'135	1'331	1'157
018	220	44	10	26
		38	10	0

Muttersau	AK-Titer im Kolostrum (ELISA-Units)	B2 (ELISA-Units)	B3 (ELISA-Units)	Hodengewebs- flüssigkeit (ELISA-Units)
		28	12	13
		18	18	0
		18	0	0
		43	69	27
019	1'440	104	tot	135
		179	974	61
		160	95	51
		125	663	43
020	2'360	118	679	106
		2'637	604	1'443
		3'078	731	1'435
		639	156	127
		268	754	97
		64	90	33
021	520	96	84	271
		142	123	74
		258	562	59
		496	879	89
		64	tot	139
		1'148	879	113
		93	595	22
022	560	186	23	52
		247	26	67
		245	21	40
		38	30	97

B2: Blutentnahme bei der Kastration (7. Tag pp)

B3: Blutentnahme beim Absetzen (26. Tag pp)

Tiere aus der Kontrollgruppe sind in kursiver Schrift aufgeführt.

tot: das Ferkel ist zwischen der Kastration und dem Absetzen verstorben